

ÉTUDE PHOTOCHIMIQUE DE L'ACIDE DESOXYRIBONUCLÉIQUE

II. ÉTUDE DES PRODUITS DE LA PHOTOLYSE

par

MAURICE ERRERA

Laboratoire de Morphologie animale, Université libre de Bruxelles (Belgique)

INTRODUCTION

Dans un travail précédent³, nous avons étudié la photolyse de l'acide désoxyribonucléique et de la désoxyribonucléoprotéine correspondante en fonction des énergies U.V. incidentes. Nous avons également observé des modifications du spectre d'absorption et avons pu en conclure que la photolyse de la macromolécule est accompagnée d'une disparition appréciable de bases pyrimidiques. Enfin, nous avons constaté, qu'en solution saline molaire, les rendements énergétiques concernant la photolyse de la nucléoprotéine sont du même ordre de grandeur que pour l'acide désoxyribonucléique libre.

Le présent travail a pour but, d'une part de préciser la nature des produits de la photolyse de l'acide désoxyribonucléique et d'autre part, d'étudier l'influence de la concentration saline sur la photolyse du complexe désoxyribonucléoprotéique: on sait, en effet, que ce dernier est plus ou moins dissocié suivant la concentration saline: il semble plus stable et plus homogène à concentration saline diluée ($\text{NaCl } 0.02 M$) qu'en solution concentrée ($\text{NaCl } 1.0 M$)^{4, 12} et on pouvait donc espérer trouver des propriétés photochimiques différentes.

En ce qui concerne le premier point, nous nous sommes basé sur des méthodes de fractionnement par dialyse, solubilité dans l'éthanol et l'acétone et par électrophorèse.

Nous avons montré dans la fraction d'acide désoxyribonucléique irradié, l'apparition d'un constituant plus soluble dans l'acétone et apparemment hétérogène à l'électrophorèse; nous avons également montré qu'il n'apparaissait de produits de photolyse dialysables qu'en quantité minime.

En ce qui concerne le deuxième point, nous avons observé des modifications importantes du complexe nucléoprotéique (solubilité dans $\text{NaCl } 0.14 M$) mais aucune différence notable n'a été observée entre la photolyse en solution saline concentrée ou diluée, ni par le test de solubilité ($\text{NaCl } 0.14 M$) ni par électrophorèse.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Matériel et méthodes

Le matériel utilisé est le même que celui décrit précédemment³, de même que les conditions d'irradiation: La photolyse est telle que la viscosité spécifique finale est d'environ 30% de sa valeur initiale.

Bibliographie p. 124.

Méthodes analytiques

Celles-ci ont, pour la plupart, été décrites également. Ajoutons seulement que le désoxyribose a été déterminé par la méthode de DISCHE⁴; l'arginine a été dosée suivant la méthode de DUBNOFF décrite dans KOCH ET HANCKE⁷. L'azote a été déterminé par Nesslerisation directe d'un hydrolysat à l'acide sulfurique et H_2O_2 ¹³.

Electrophorèse

L'appareil de microélectrophorèse d'ANTWEILER¹ a été utilisé. Nous nous sommes efforcé de comparer les résultats obtenus au moyen d'échantillons irradiés à ceux obtenus au moyen de solutions identiques non irradiées. Nous n'avons fait aucune tentative pour obtenir des valeurs absolues des vitesses de déplacements.

I. Acide désoxyribonucléique

a. Dialyses

Si une solution d'acide désoxyribonucléique (3 mg/ml), préalablement dialysée contre NaCl 1.0 M, est irradiée pendant 12 heures (lampe Philora) et que l'on redialyse la même solution contre un petit volume de NaCl 1.0 M pendant 18 heures, on ne voit apparaître dans le dialysat aucune fraction ayant les caractères spectrophotométriques habituels d'un nucléotide. La dialyse d'une solution témoin montre la présence dans le dialysat d'une petite fraction oligonucléotidique (environ 2% de l'extinction totale). Le spectre d'absorption du dialysat provenant de la fraction irradiée à une extinction sensiblement supérieure (environ 4.5% de l'extinction totale à 260 m μ). La différence entre les deux spectres ne présente toutefois aucun maximum caractéristique — tout au plus y a-t-il une légère ébauche de plateau entre 250 et 270 m μ .

Le phosphore libre apparu dans le dialysat provenant de la solution irradiée est d'environ 1 p.mille du P théorique total et le P organique représente au maximum 3% du P total.

L'azote ammoniacal libre représente également moins de 1% de l'azote total. Dans le dialysat des témoins, les valeurs obtenues pour le P libre et organique sont insignifiantes. Aucune fraction précipitable par l'acide trichloracétique à 10% n'est observée dans les dialysats.

b. Agents précipitants

1. *Réactions qualitatives.* Nous avons essayé de trouver une méthode de solubilité qui permettrait de suivre plus commodément que par viscosimétrie la cinétique de l'irradiation.

La solubilité des sels de lanthane (p_H 6.4), du nucléate de protamine, ne sont pas modifiées; le phénol à 90% précipite aussi bien l'acide nucléique irradié que le témoin.

En milieu acide par contre, on observe une augmentation de la solubilité de l'acide désoxyribonucléique au cours de l'irradiation.

Si on ajoute à 47 g d'acide nucléique 1.09 ml de HCl N/20, 15% seulement de la fraction non irradiée entre en solution, alors qu'il est possible de recueillir 80% de l'échantillon irradié dans le liquide surnageant. De même, en présence d'acide acétique concentré, l'opalescence des solutions diminue assez considérablement.

2. *Ethanol et acetone.* En présence de concentrations croissantes d'éthanol (à p_H neutre), on constate une solubilité complète de l'acide désoxyribonucléique témoin pour des concentrations inférieures à 55%; dans le cas de la solution irradiée, la précipitation commence à 61% d'éthanol. La précipitation est pratiquement complète dans le premier cas à 66% d'éthanol, et à 71% dans le second. Le graphique (Fig. 1) résume les résultats expérimentaux.

Dans l'acétone, on a une situation très semblable (Fig. 2). Dans ce dernier cas, on voit que si la concentration d'acétone dépasse 43%, il reste environ 10% du nucléotide irradié en solution. Ceci nous a incité à étudier la solubilité de quantités croissantes d'acide désoxyribonucléique dans ce dernier solvant.

A 250λ de solutions de concentrations croissantes d'acide désoxyribonucléique (irradié ou non), on ajoute 537λ d'une solution aqueuse d'acétone et de NaCl, de manière à obtenir une concentration finale de 50% d'acétone et de $0.17 M$ de NaCl (une autre expérience a été faite en présence d'acétone à 55% et de NaCl $0.1 M$).

Les solutions sont ensuite centrifugées 20' à 0° . Les surnageants et les culots sont évaporés à 90° et les résidus sont remis en solution dans 3.50 ml H_2O . La concentration en nucléotides de chaque fraction est ensuite déterminée spectrophotométriquement à $260 m\mu$.

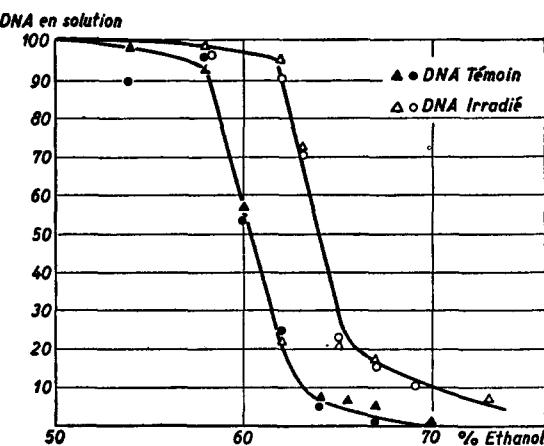


Fig. 1. Solubilité de 28.0γ DNA dans 1.09 ml Ethanol H_2O ($NaCl 0.02 M$)

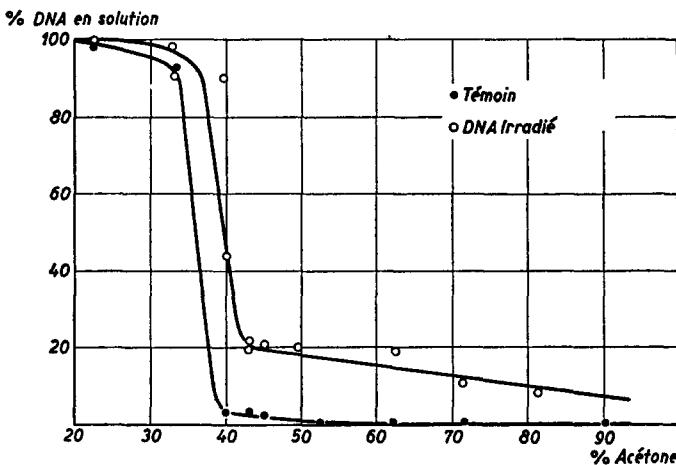


Fig. 2. Solubilité de 118γ DNA dans 2.15 ml d'Acétone- H_2O ($NaCl 0.11 M$)

La Fig. 3 montre le résultat obtenu: une fraction constante du substrat irradié entre en solution, ce qui confirme l'existence d'un constituant soluble (correspondant à environ 15% de l'acide nucléique total dans l'acétone 50%; 8% environ est soluble dans 55% d'acétone).

Il ne nous a pas été possible d'augmenter les quantités d'acide désoxyribonucléique mis en jeu pour obtenir une courbe de solubilité complète (ce qui nous aurait peut-être permis de distinguer plusieurs fractions de solubilités différentes).

Le spectre d'absorption du constituant soluble après irradiation a été déterminé. Il présente un maximum à $260 \text{ m}\mu$ et a les mêmes caractères que l'acide désoxyribonucléique initial, sauf que le minimum est déplacé aux environs de $240 \text{ m}\mu$ ($\frac{260 \text{ m}\mu}{240 \text{ m}\mu} = 1.5$).

II. Nucléoprotéine

Nous avons recherché l'apparition dans la solution photolysée de fragments dialysables, et les modifications du complexe nucleoprotéique précipitable en solutions alines ($\text{NaCl } 0.14 \text{ M}$).

Les irradiations ont été effectuées en solution saline concentrée (1.0 M NaCl) et diluée (0.02 M NaCl) au moyen de la lampe Philora pendant 12 heures. 2 mg de nucléoprotéine sont dissous par ml de $\text{NaCl } 1.0 \text{ M}$. Une moitié de la solution est dialysée pendant 36 heures contre $\text{NaCl } 1.0 \text{ M}$, l'autre contre $\text{NaCl } 0.02 \text{ M}$. Cette dernière solution est plus opalescente que la première. Les deux solutions sont centrifugées à 15.000 tours/min pendant 15 minutes avant l'irradiation et sont ensuite ajustées de manière à ce que leurs extinctions soient comparables ($\sim E = 12.4$).

a. Dialyses

1 ml de chaque solution irradiée est dialysée (en même temps que des témoins non irradiés) pendant 20 heures contre 6.0 ml de solution saline ($\text{NaCl } 0.02 \text{ M}$ ou 1.0 M). Les dialysats des solutions irradiées et témoins sont ensuite comparés à une solution "étalon" constituée par la nucléoprotéine initiale non dialysée, mais diluée dans une proportion comparable (1 ml dilué avec 6.0 ml solution saline 1.0 M).

Si on compare le spectre d'absorption du dialysat provenant d'une solution irradiée à celui du témoin non irradié, on obtient par différence, des valeurs de l'extinction que l'on peut considérer comme représentatives d'une fraction dialysable provenant de l'irradiation. Cette méthode n'est évidemment pas rigoureuse, car le dialysat non irradié contient environ 12% de l'extinction totale, et il n'a pas été démontré que cette fraction elle-même n'a pas été modifiée par l'irradiation. En procédant de cette manière, on constate que, dans le cas de l'irradiation en solution saline concentrée et diluée, il y a dialyse d'un constituant nouveau absorbant de manière assez considérable aux environs de $220 \text{ m}\mu$. Les courbes d'absorption présentent un plateau entre 250 et $280 \text{ m}\mu$, ce qui suggère le passage à travers la membrane, d'un excès de constituant peptidique par rapport au nucléotide.

Des mesures des quantités d'azote total dialysables montrent qu'il y a un excès d'azote total d'environ 7% (irradiations en solution 0.02 M NaCl) et d'environ 20% (irradiation en solution 1.0 M NaCl) dans les échantillons irradiés. Il y a également apparition dans ces dialysats de traces de désoxyribose correspondant à quelques % ($\pm 5\%$) de désoxyribose total. Il semble donc que la photolyse libère de la nucléoprotéine une petite fraction ($\pm 10\%$) d'azote protéique dialysable. Des méthodes

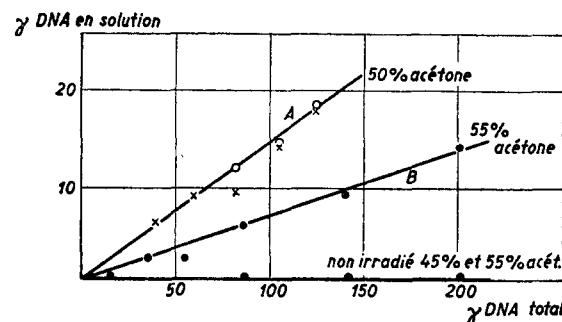


Fig. 3. Solubilité de l'acide désoxyribonucléique dans l'acétone

●○ DNA dosé dans le surnageant $A = \text{NaCl } 0.17 \text{ M}$
 × DNA dosé dans le précipité $B = \text{NaCl } 0.1 \text{ M}$

analytiques plus sensibles et plus spécifiques sont nécessaires pour pouvoir interpréter les résultats sur une base plus quantitative.

b. Précipitation par NaCl 0.14 M

Les solutions de nucléoprotéine irradiées et témoins sont diluées soit avec H_2O soit avec une solution saline, de manière à obtenir une concentration finale de 0.14 M en NaCl. Nous avons déterminé, dans le surnageant provenant de la précipitation obtenue dans ces conditions, l'absorption à 260 m μ , le Phosphore total, le désoxyribose, l'azote total et l'arginine. Les valeurs obtenues sont comparées à des solutions étalons de nucléoprotéine diluées au moyen d'une solution de NaCl (0.02 M ou 1.0 M) à un volume identique à celui obtenu par les précipitations. Les résultats expérimentaux sont résumés graphiquement (Fig. 4 et 5). On constate que le comportement de la nucléoprotéine en solution saline diluée et concentrée est fort semblable. Il est difficile de comparer quantitativement les résultats, parce que la solution saline diluée étant plus

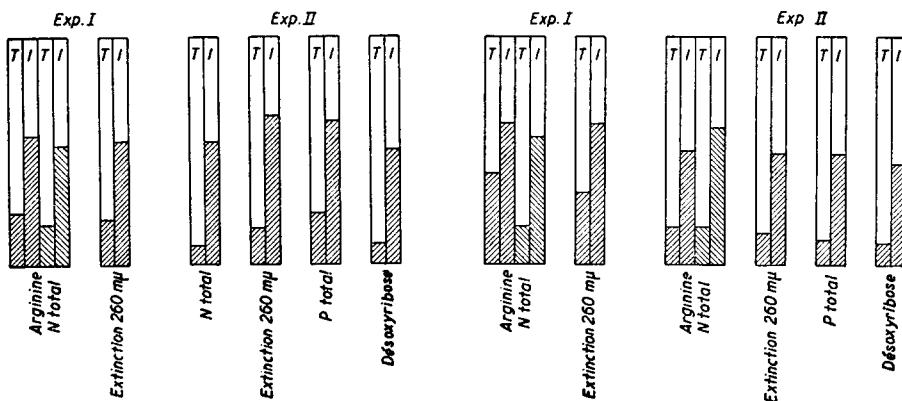


Fig. 4. NP irradiée dans NaCl 1.0 M

Fractionnement de la désoxyribonucléoprotéine (1.3 mg/ml) dans NaCl 0.14 M. Les rectangles T et I correspondent respectivement aux solutions témoins et irradiées (Philora pendant 12 heures)

Fig. 5. NP irradiée dans NaCl 0.02 M

opalescente que la solution saline concentrée, il n'est pas possible d'estimer rigoureusement les quantités d'énergie lumineuse réellement absorbées dans les deux cas.

L'augmentation de l'extinction, du P total, et du désoxyribose des surnageants sont du même ordre de grandeur quelles qu'aient été les concentrations salines durant l'irradiation. En outre, l'augmentation au cours de l'irradiation du pourcentage de bases azotées dans le surnageant est du même ordre de grandeur que l'accroissement du N total, ce qui indique que c'est probablement l'ensemble du complexe nucléoprotéique qui est rendu imprécipitable.

c. Electrophorèse

Dans l'espoir de mettre en évidence d'éventuels constituants anormaux dans les solutions irradiées, nous avons comparé les diagrammes d'électrophorèse de l'acide nucléique ou de la nucléoprotéine irradiée avec des témoins non irradiés. L'appareil employé¹ n'est utilisable que pour des concentrations relativement élevées d'acide nucléique, vu la faible profondeur optique des cuves; en outre, le dispositif ne permet

d'observer que le compartiment ascendant de la cellule. Nous n'avons pas tenté d'obtenir des mesures de vitesses électrophorétiques: nous avons simplement, dans chaque cas, indiqué les déplacements en fonction de la durée de la migration (t) et de la différence du potentiel appliquée aux électrodes (V).

Des solutions d'acide désoxyribonucléique ou de nucléoprotéine (environ 3 mg par ml) ont été dialysées contre le tampon qui servira aux électrophorèses. Les solutions dialysées sont centrifugées, puis irradiées (Philora), une fraction de chaque solution étant conservée comme témoin. Dans le cas de l'acide désoxyribonucléique, l'irradiation (12 heures) réduit la viscosité à environ 40 à 50% de la valeur initiale.

Le Tableau I groupe l'ensemble des résultats expérimentaux; la colonne 2 donne les vitesses de migrations relatives (cm parcourus par seconde et par volt de tension appliquée aux bornes $\times 10^6$). La colonne 3 donne la différence entre la première et la

TABLEA
ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE (TÉMOIN)

	I	2	3	4
	m.a.	Distance parcourue	Concentration relative	Remarques
Expérience 1 pH 6.7 Phosphate 0.05 M	1.39	42	300	$t = 10 \text{ min}$ $V = 50 \text{ V}$
	1.55	38.7	320	
	1.70	40.7	320	
	1.57	43.0	315	
	1.46	41	325	
Expérience 2 pH 6.05 Phosphate 0.05 M	1.50	40.9		
Expérience 3 pH 8.5 Borate 0.02 M	0.42	47.5	—	$t = 13 \text{ min}, V = 51 \text{ V}$

NUCLÉOPROTÉINE (TÉMOIN)

Expérience 4 pH 8.5 Borate 0.02 M	0.43 0.39	21.3 20.4	560 575	$t = 18 \text{ min}, V = 50 \text{ V}$
Expérience 5 pH 6.7 Phosphate 0.05 M	1.24	21.0	480	$t = 20 \text{ min}, V = 50 \text{ V}$
Expérience 6 pH 6.7 Phosphate 0.01 M	0.65 0.65	27.0 26.0	400 406	$t = 12 \text{ min}, V = 81 \text{ V}$ $t = 13 \text{ min}, V = 85 \text{ V}$ $E = 45.5$

Colonnes:

1. m.a.: milliampères lus directement sur l'ampèremètre de l'appareil.

2. Distance parcourue: calculée en centimètres parcourus par seconde et par Volt entre les deux bornes de l'appareil $\times 10^6$.

Bibliographie p. 124.

dernière lecture interférométrique correspondant aux limites des constituants étudiés; cette valeur est directement proportionnelle à la surface qu'occupe le constituant sur le diagramme, c'est-à-dire à la concentration. Nous avons vérifié que l'indice de réfraction des solutions irradiées ne change pas au cours de l'irradiation.

RÉSULTATS (Tableau I)

Nous n'avons, dans aucun cas, observé l'apparition d'un constituant supplémentaire après l'irradiation. Dans les expériences 1 à 5, on ne peut observer la présence que d'un seul constituant, tant dans les échantillons irradiés, que dans les témoins; dans l'expérience 6 (nucléoprotéine en solution dans le phosphate 0.01 M, p_H 6.7), il y a une deuxième fraction représentant environ 10% du total. Cette fraction migre à une vitesse

I

ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE (IRRADIÉ)

1	2	3	4
m.a.	Distance parcourue	Concentration relative	Remarques
I.42 I.54 I.51 I.51 I.62	40.9 40.7 37.7 40.5 38.4	285 270 270 260 213	Irradié 4 h Irradié 7 h 30 Irradié 9 h 45 Irradié 11 h 25 Irradié 19 h } Migration t = 10 min V = 60 V
I.45	42.5	—	Irradié 12 h; t = 15 min V = 50 V
0.44 0.36	37.2 43.0	— —	Irradié 12 h; t = 15 min, V = 46 V t = 11.5 min, V = 51 V

NUCLEOPROTÉINE (IRRADIÉ)

0.40 0.40 0.43	23.9 23.3 23.3	— 470 470	Irradié 12 h t = 18 min; V = 50 V E = 48.6
I.3	22.2	390	Irradié 12 h t = 20 min; V = 50 V
0.64 0.65	24.6 24.6	370 395	Irradié 12 h t = 14 min; V = 81 V t = 11 min; V = 81 V E = 43.3

3. *Concentration relative*: les valeurs sont les différences entre les lectures interférométriques correspondant aux limites supérieures et inférieures du constituant. Cette différence est proportionnelle à la surface occupée par le constituant sur le diagramme, c'est-à-dire à sa concentration.

4. t = durée de migration; E = extinction de la solution à $260 \text{ m}\mu$; V = différence de potentiel aux bornes de l'appareil en Volts.

Bibliographie p. 124.

environ 10% supérieure à celle du constituant principal et l'apparence électrophorétique de ce constituant n'est pas modifiée par l'irradiation.

On observe toutefois d'une manière régulière, que la surface occupée par le constituant sur les diagrammes diminue au cours de l'irradiation ; ce phénomène est particulièrement apparent dans l'expérience 1, où la valeur de cette surface a été mesurée pour des temps d'irradiation croissants. La Fig. 6 qui représente graphiquement les résultats de cette expérience, montre que cette diminution de la surface du diagramme, donc de la concentration du constituant, est approximativement proportionnelle à la durée d'irradiation. On voit, en outre, qu'après 12 heures d'irradiation, on ne retrouve que 80% environ du constituant initial. Ce résultat correspond assez étroitement avec celui obtenu par fractionnement à l'acétone. Nous avions constaté après des irradiations effectuées dans les mêmes conditions, que l'on ne parvenait à précipiter (50% d'acétone) que 85% de l'acide nucléique total.

Il n'a pas été possible de mettre cette fraction de 15% en évidence sous forme d'un nouveau "sommet" électrophorétique, en inversant le courant. L'hétérogénéité de cette fraction pourrait expliquer que l'on ne la retrouve pas sur les diagrammes.

Les expériences présentes montrent également que les vitesses de migration ne changent pas de manière mesurable au cours de l'irradiation. Le seul résultat positif est donc la disparition d'un pourcentage appréciable du constituant initial. Il semble que les fragments qui en résultent soient hétérogènes et non précipitables par l'acétone à 50%.

DISCUSSION

1. La diminution de l'asymétrie des particules d'acide désoxyribonucléique a été démontrée par HOLLANDER⁶ : quand la viscosité tombe à environ 20% de sa valeur initiale, elle devient pratiquement indépendante de l'orientation des molécules dans le capillaire. Il est important d'essayer de préciser la nature des groupements photolysés au cours de cette dégradation. Il semble que l'on puisse exclure une photolyse importante des liaisons glucosidiques entre désoxyribose et bases azotées comme c'est le cas pour l'hydrolyse acide ménagée notamment (libération de bases puriques), car il y aurait formation dans ce cas de bases libres dialysables et on aurait une diminution de l'extinction des solutions¹¹. On trouve également peu de phosphate inorganique après photolyse, ce qui exclut probablement une photolyse importante de liaisons ester-phosphate.

D'autre part, GULLAND⁵ a postulé l'existence de ponts hydrogènes internucléotidiques (entre les hydroxyles du désoxyribose et les groupements aminés des bases azotées p. ex.) qui sont rompus en milieu acide et alcalin, avec diminution simultanée de la

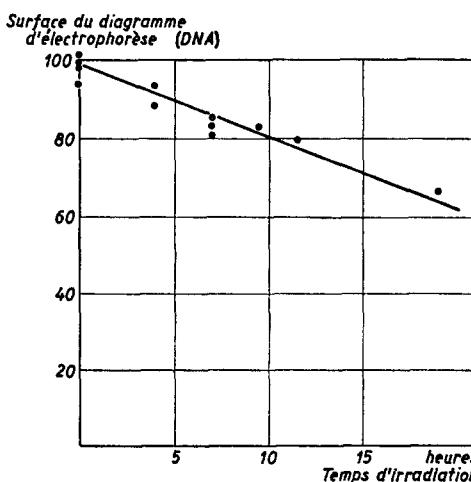


Fig. 6. Disparition partielle du constituant électrophorétique initial DNA 3 mg/ml au cours de l'irradiation (Philora)

viscosité. Ce phénomène s'accompagne d'une augmentation de l'extinction dans tout le spectre (THOMAS¹²). Celle-ci est du même ordre de grandeur à 220 et 300 m μ que celle qui accompagne la photolyse⁹. Des variations spectrales analogues accompagnent également l'hydrolyse enzymatique (KUNITZ)⁸. Il faudrait encore éliminer la possibilité d'un effet TYNDALL plus marqué des solutions irradiées, pour admettre que la photolyse des liaisons internucléotidiques est seule responsable des effets observés sur l'extinction des solutions. Enfin, rappelons que Heyroth a décrit au cours de l'irradiation des bases azotées isolées (uracile) une augmentation analogue de l'extinction des solutions à 220 m μ et à 300 m μ ⁹.

La stabilité apparente de l'extinction à 260 m μ s'explique par la photolyse simultanée d'une quantité appréciable de bases pyrimidiques et peut-être d'adénine qui compense l'augmentation générale de l'extinction.

2. La nature macromoléculaire des principaux produits de la photolyse est démontrée par l'absence presque totale de composés dialysables. On peut cependant démontrer l'existence d'une fraction d'environ 10-15% (après environ 60% de photolyse) ayant une moindre solubilité dans l'acétone. Les diagrammes électrophorétiques montrent une diminution correspondante du composé principal, sans que l'on puisse trouver de constituant nouveau, celui-ci étant vraisemblablement de nature hétérogène.

On a vu, d'autre part, que le dialysat contient environ 3% de phosphate sous forme organique; le spectre d'absorption de celui-ci n'accusant aucun maximum caractéristique vers 260 m μ , il pourrait s'agir d'un oligonucléotide modifié ou d'un peptide.

3. Nous avons montré que la photolyse de la désoxyribonucléoprotéine entraîne une considérable diminution du complexe précipitable en solution saline 0.14 M (NaCl). Il ne semble pas y avoir de différence appréciable, qu'il s'agisse d'irradiation en solution saline concentrée ou diluée, c'est-à-dire dans des conditions où le complexe nucléoprotéique est plus ou moins dissocié.

RÉSUMÉ

Une étude des produits de la photolyse de l'acide désoxyribonucléique et de désoxyribonucléoprotéines, par dialyse, précipitation à l'éthanol, à l'acétone et NaCl est décrite. Un très petit pourcentage des produits de photolyse sont dialysables.

Le fractionnement à l'acétone des produits de la photolyse de l'acide désoxyribonucléique montre l'apparition d'une fraction soluble d'environ 10 à 15%. La surface du diagramme d'électrophorèse représentant le constituant initial est diminuée d'une quantité correspondante; la fraction restante n'apparaît pas sur les diagrammes, vraisemblablement à cause de son hétérogénéité.

La solubilité dans NaCl 0.14 M de la nucléoprotéine irradiée est augmentée.

La photolyse de liaisons labiles, suivie de réarrangements, pourrait être cause de la diminution de l'asymétrie des particules.

SUMMARY

An attempt has been made to study the ultra-violet photolysis products of desoxyribonucleic acid and desoxyribonucleoprotein by dialysis, acetone, ethanol or salt precipitation and electrophoresis. A very small percentage of the photolyzed products was found to be dialyzable.

Acetone precipitation of the photolyzed desoxyribonucleic acid shows the appearance of a 10-15% soluble fraction. The areas occupied by the principal constituent in the electrophoretic diagrams are found to be decreased by a corresponding amount; the remaining fraction does not show up in the diagrams, owing probably to heterogeneity. The solubility in 0.14 M NaCl of the irradiated nucleoproteins is increased.

Photolysis of labile bonds, followed by rearrangements, might be the cause of the decrease in asymmetry of the particles.

ZUSAMMENFASSUNG

Eine Untersuchung der Photolyseprodukte der Desoxyribonukleinsäure und von Desoxyribonukleoproteinen mit Hilfe der Dialyse, Fällung mit Äthanol, Aceton und NaCl wird beschrieben. Ein sehr kleiner Prozentsatz der Photolyseprodukte ist dialysierbar.

Die Fraktionierung der Photolyseprodukte der Desoxyribonukleinsäure mit Hilfe von Aceton ergibt eine lösliche Fraktion von ungefähr 10-15%. Die Oberfläche des Elektrophoresediagramms, welche den Anfangsbestandteil darstellt, war dementsprechend vermindert; die Restfraktion erscheint nicht auf den Diagrammen, wahrscheinlich wegen ihrer Heterogenität.

Die Löslichkeit des bestrahlten Nukleoproteins in 0.14 M NaCl ist erhöht.

Die Photolyse der labilen Bindungen, gefolgt von Umlagerungen, könnte die Ursache der verminderten Asymmetrie der Teilchen sein.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ H. J. ANTWEILER, *Kolloidz*, 115 (1949) 115.
- ² Z. DISCHE, *Mikrochemie*, 8 (1930) 4.
- ³ M. ERRERA, *Biochim. Biophys. Acta*, (sous presse).
- ⁴ D. C. GAJDUSEK, *Biochim. Biophys. Acta*, 5 (1950) 397.
- ⁵ J. M. GULLAND, D. O. JORDAN ET C. J. THRELLFALL, *J. Chem. Soc.*, (1947) 1129.
- ⁶ A. HOLLÄENDER, J. W. GREENSTEIN ET W. V. JENRETTE, *J. Nat. Cancer Inst.*, 2 (1941) 23.
- ⁷ F. C. KOCH ET M. E. HANKE, *Practical methods in Biochemistry*, William and Wilkins (1948) p. 72.
- ⁸ M. KUNITZ, *J. gen. Physiol.*, 33 (1950) 349.
- ⁹ J. R. LOOFBOUROW, *Growth*, suppl. vol. XII (1948) 77.
- ¹⁰ A. MIRSKY ET A. W. POLLISTER, *J. gen. Physiol.*, 30 (1946) 101.
- ¹¹ J. M. PLOESER ET H. S. LORING, *J. Biol. Chem.*, 178 (1949) 431.
- ¹² R. THOMAS, *Experientia* 1951 (sous presse).
- ¹³ W. W. UMBREIT, R. H. BURRIS ET J. F. STAUFFER, *Manometric techniques*, Burgers Publ., (1949) 161.

Reçu le 9 février 1951